

مقاله پژوهشی

تصفیه میکروبی پساب مخازن پرورش فیل ماهیان (*Huso huso*) تحت تاثیر
غلظت‌های مختلف مخلوط باکتری‌های *Corynebacterium*, *Bacillus*
Nitrosomonas و *Nitrobacter* در سیستم گردش آب

محسن پوراسدی^{۱*}، مسعود ستاری^۲، مهران آوخی کیسمی^۳، حجت‌اله زمانی^۴

DOI: 10.22124/japb.2024.26682.1530

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۲

چکیده

این مطالعه با بیوفیلترهای طراحی شده حاوی ترکیب باکتری‌های *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Nitrosomonas* و *Nitrobacter* با غلظت‌های مختلف و شاهد (بدون باکتری) برای تصفیه زیستی پساب‌های آکواریوم‌هایی با حجم آبگیری ۰/۴ متر مکعب با تراکم ۱۰ قطعه فیل ماهی (*Huso huso*) انجام شد. دبی آب ورودی هر یک از آکواریوم‌ها ۰/۰۴ لیتر در ثانیه و تعداد دفعات گردش آب هر آکواریوم ۱ بار در ۲۴ ساعت تعیین شد. ۴ روز پس از افزودن فیل ماهیان با وزن متوسط $21/35 \pm 2/67$ گرم به آکواریوم‌ها، مخلوطی از ۴ باکتری به صورت سوسپانسیون‌های غلیظ با نسبت‌های ۱۰^۵، ۱۰^۷ و ۱۰^۹ سلول در میلی‌لیتر به بیوفیلترهایی که در محل خروجی پساب این آکواریوم‌ها قرار داده شده بودند، تلقیح شد. میزان آمونیاک، نیتريت، نیترات، وزن و شاخص‌های رشد بچه ماهی‌ها به صورت هفتگی ارزیابی شد. پس از ۴ هفته تیمار با غلظت‌های مختلف ترکیب باکتریایی منتخب، اختلاف کیفیت آب تیمارهای آزمایشی و شاهد معنی‌دار بود ($P < 0/05$). در طول دوره آزمایش، میزان pH، اکسیژن، آمونیاک، نیتريت و نیترات در تیمار شاهد روند افزایشی و در سه تیمار آزمایشی روند کاهشی داشت. درصد بقا، افزایش وزن و ضریب رشد ویژه در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد افزایش داشت. برعکس ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای آزمایشی بیشتر بود ($P < 0/05$). در مقایسه تیمارهای آزمایشی با همدیگر، اختلاف آماری معنی‌داری بین آنها وجود نداشت ($P > 0/05$). بنابراین بر اساس این نتایج، ترکیب باکتریایی منتخب کشت شده در بیوفیلتر با غلظت ۱۰^۷ سلول در میلی‌لیتر می‌تواند برای بهبود کیفیت پساب مزارع پرورش ماهیان خاویاری مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: استفاده مجدد آب، کیفیت آب، فیل ماهی، شاخص رشد، تصفیه پساب.

۱- دانشجوی دکتری شیلات، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.

۲- استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.

۳- دانشیار گروه شیلات و آبزیان، واحد آموزش علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک‌خان، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

۴- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول: pourasadim@yahoo.com

مقدمه

محسوب می‌شوند. تولید تجاری ماهیان خاویاری مبتنی بر استفاده از سطح بالایی از تغذیه حاوی پروتئین است. در فرآیند گوارش چربی و کربوهیدرات، آب و دی‌اکسید کربن به عنوان مواد زائد تولید می‌شوند و در هضم پروتئین، بازده ترکیبات نیتروژنی عمدتاً آمونیاک است (Rafatnezhad et al., 2008; Kolarevic et al., 2014). روش‌های مختلفی برای تصفیه و کاهش سطح آمونیاک و نیتريت در محیط‌های پرورش آبزی وجود دارد. در روش زیستی، فیلترهای زیستی با ارائه سطوح اتصال فراوان جوامع میکروبی مرکب از باکتری‌های هتروتروف طراحی می‌شوند. نیتریفیکاسیون به طور خلاصه شامل اکسید هوازی در تبدیل آمونیوم به نیتريت و سپس، نیترات است. این واکنش در دو مرحله به وسیله باکتری‌های اکسید کننده آمونیوم مانند *Nitrosomonas* و *Nitrobacter* صورت می‌گیرد (Hollocher et al., 1981; Crab et al., 2006). میزان گاز آمونیاک در محیط پرورش ماهیان خاویاری با توجه به زمان طولانی دوره پرورش، در مقادیر کم نیز سبب اثرات نامساعد بر شرایط فیزیولوژیک طبیعی و نهایتاً عوارض مختلف، کاهش رشد، کیفیت گوشت و خاویار تولیدی می‌شود. این پژوهش از سویی با

سیستم‌های مختلفی برای تولید ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند. معروف‌ترین روش تقسیم‌بندی سیستم‌های تولیدی بر مبنای میزان و دفعات استفاده از آب ورودی است که بر این اساس دو سیستم باز (جریان گذر) و سیستم‌های آبی‌پروری بازگردشی (آب برگشتی) تعریف شده است (Timmons et al., 2002). در سیستم‌های پرورشی باز، آب ورودی تنها یک مرتبه مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما در سیستم‌های بازگردشی، آب درون سیستم گردش می‌کند و بر حسب طراحی سیستم، درصدی از آب تعویض و تصفیه می‌شود که بر اساس سطح فن‌آوری و واحدهای تصفیه‌ای موجود به دو سیستم بازگردشی نسبی (در ایران موسوم به آب برگشتی) و بازگردشی کامل (مدار بسته) تقسیم‌بندی می‌شوند (Summerfelt et al., 2009).

روش اصلی پرورش ماهیان خاویاری در ایران، پرورش در حوضچه‌های بتنی و فایبرگلاس و غیره است و عمدتاً برای تامین آب مورد نیاز از سیستم باز استفاده می‌شود. اما به دلیل شرایط اقلیمی خاص و کمبود آب در کشور، سیستم‌های بسته و گردشی از بهترین روش‌های تولید تجاری در صنعت آبی‌پروری

تراکم ذخیره سازی (تعداد ماهیان) در تمامی آکواریوم ها یکسان و بدون اختلاف معنی دار بود.

تهیه غلظت های مختلف از ترکیب باکتری ها

چهار گونه باکتری تصفیه گر منتخب شامل *Bacillus licheniformis*، *Corynebacterium ammoniagenes* و *Nitrosomonas europaea* و *Nitrobacter winogradskyi* که از پساب مزارع پرورش ماهیان خاویاری جداسازی شده بودند و در غربالگری نسبت به یکدیگر خاصیت ضدباکتریایی نداشتند ولی دارای بیشترین خاصیت ضدباکتریایی علیه باکترهای *Aeromonas hydrophila* بر اساس روش انتشار در دیسک بودند، در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند (Sugita et al., 2002). باکتری های منتخب در محیط کشت مایع نوترینت براث (NB) پرورش و روی محیط کشت جامد نوترینت آگار (NA) نگهداری شدند. ترکیب باکتریایی منتخب در دمای ۳۲ درجه سانتی گراد و در ارلن ۲ لیتری در انکوباتور شیکردار پرورش داده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت، نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Hermle Labortechnik، آلمان) و با سرم فیزیولوژی

هدف بررسی تاثیر تراکم و غلظت باکتری های منتخب تصفیه گر پساب (تلقیح شده در بیوفیلترها) به عنوان عوامل طبیعی موجود در محیط زیست ماهی بر میزان حذف آمونیاک و نیتريت و از سوی دیگر، با هدف اقتصادی یعنی تاثیر این عمل بر شاخص های رشد فیل ماهیان (*Huso huso*) پرورشی در قیاس با تیمار شاهد (دارای بیوفیلتر بدون اضافه کردن باکتری) انجام شد. اما از نظر اکولوژیکی نیز با توجه به تغییرات اقلیمی و کاهش منابع آبی مورد نیاز، مطالعه و بهره گیری از سیستم های نوین در صنعت آبی پروری، بویژه پرورش ماهیان خاویاری مورد تاکید مجامع علمی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

این آزمایش از ۱۵ خرداد تا ۱۵ تیر سال ۱۴۰۲ در بخش آبی پروری مرکز آموزش شیلاتی میرزا کوچک خان گیلان (رشت) در قالب سه تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد و هر کدام با سه تکرار برای تصفیه زیستی پساب ۱۲ آکواریوم پرورش بچه ماهی به ابعاد ۵۰×۵۰×۱۶۰ سانتی متر با حجم آبیگری ۰/۴ متر مکعب و با تراکم ۱۰ قطعه بچه فیل ماهی (*Huso huso*) با وزن متوسط ۲۱/۳۵±۲/۶۷ گرم در هر آکواریوم انجام شد. میزان اولیه

(NSS؛ ۸/۵ گرم در لیتر NaCl) سه بار شستشو شده و تا زمان مصرف در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

از ترکیب باکتری‌ها، برای افزودن به تیمارها در تراکم‌های مختلف، از محیط کشت‌های اختصاصی مایع، با کشت باکتری‌های *Bacillus*، *Corynebacterium*، *Nitrosomonas* و *Nitrobacter* و با قرار دادن در دستگاه انکوباتور شیکردار، با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. تعیین تراکم‌های مختلف نیز با استفاده از لوله‌های مک‌فارلند و خواندن غلظت جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway، 6105، انگلستان) انجام گرفت.

پس از استقرار بیوفیلترها، نمونه‌های ذخیره باکتریایی منتخب در یک کشت ۲۴ ساعته با غلظت 10^{13} سلول در میلی‌لیتر آماده شد. سپس این ترکیب با نسبت‌های 10^5 ، 10^7 و 10^9

سلول در میلی‌لیتر در بیوفیلترها تلقیح شد (جدول ۱). یک تیمار بدون باکتری نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد (Keysami et al., 2012).

طراحی و ساخت بیوفیلتر تصفیه باکتریایی پساب

برای انجام این آزمایش ابتدا ۱۲ عدد بیوفیلتر آزمایشگاهی طراحی و ساخته شد. به این ترتیب که برای تصفیه پساب خروجی مخازن پرورش ماهی ابتدا یک میکروبیولتر، شامل یک بطری آب نیم لیتری که دو سوم آن با سنگریزه پر شده در داخل هر آکواریوم قرار داده شد. پساب خروجی ابتدا از فیلتر شنی با روش A.W.L. (انتقال آب با فشار هوا) به داخل بیوفیلتر که در پایین هر آکواریوم نصب شده بود، وارد می‌شد (Otte and Rosenthal, 1979).

جدول ۱: طراحی تیمارهای آزمایش

تیمار	ترکیب
C	تیمار شاهد: بدون افزودن ترکیب باکتریایی به بیوفیلتر
T ₁	تیمار ۱: کشت ترکیب باکتریایی با غلظت 1×10^5 سلول در میلی‌لیتر در بیوفیلتر
T ₂	تیمار ۲: کشت ترکیب باکتریایی با غلظت 1×10^7 سلول در میلی‌لیتر در بیوفیلتر
T ₃	تیمار ۳: کشت ترکیب باکتریایی با غلظت 1×10^9 سلول در میلی‌لیتر در بیوفیلتر

با اضافه کردن ترکیب باکتریایی جبران شود. در طی دوره آزمایش، آکواریومها با یک پمپ (کمپرسور مرکزی) به طور یکسان هوادهی شدند.

اندازه گیری pH، دما و اکسیژن از شروع پرورش ماهیان در آکواریومها صورت گرفت، ولی میزان آمونیاک، نیتريت و نیترات پس از ۴ روز بعد از تغذیه ماهیان اندازه گیری شد. pH با دستگاه pH متر (WTW، آلمان)، دما با دماسنج جیوه ای، اکسیژن محلول با اکسی متر (V5، YSI، آمریکا) و متغیرهای NO_2 ، NO_3 و NH_3 با دستگاه نیتريت و نیترات و آمونیاک سنج (HI93715، Hanna، تایوان) و همچنین اسپکتروفوتومتر (Jenway، 6105، انگلستان) اندازه گیری و ثبت شد.

میزان غذادهی با استفاده از غذای اکستروود ماهیان خاویاری (FFS1، فرادانه، ایران) حاوی ۵۰-۴۸ درصد پروتئین، ۱۲ درصد چربی، ۳ درصد فیبر، ۱۰ درصد خاکستر، ۱۰ درصد رطوبت و ۱/۳ درصد فسفر و با قطر به اندازه ۲-۳ میلی متر انجام شد. غذادهی به بچه ماهیان، بر حسب دمای آب، ۴-۳ درصد وزن بدن، سه بار در روز (صبح، ظهر و عصر) انجام شد. هر هفته یک بار وزن هر ۱۰ بچه ماهی آکواریومها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم ثبت

بیوفیلترهای آماده شده، متشکل از ۶ عدد زانوی لوله پولیکایی با قطر دهانه ۸۰ میلی متری بود که تقریباً دو سوم حجم آن با پوکه معدنی (Scoria) سنگ آذرین قروه کردستان به عنوان بستر کشت و رشد باکتریها (Media) پر شد. منبع اصلی و اولیه تامین آب مورد نیاز پروژه، اضافه کردن آب استخر پرورش ماهیان خاویاری کارگاه شهید بهشتی بود که ورود و خروج آب (دبی) هر یک از آکواریومهای پرورشی تیمارهای آزمایشی و شاهد ۰/۰۴ لیتر در ثانیه و تعداد دفعات گردش آب یک بار در طول شبانه روز (۲۴ ساعت) تعیین شد. برای تامین آب برگشتی تصفیه شده به همراه پرگنه های موجود در آن و برقراری جریان آبی مورد نظر از ۱۲ عدد پمپ برای آکواریومهای تیمار و شاهد استفاده شد. در طول دوره آزمایش به منظور جبران تلفات و به میزان کاهش سطح آب مخازن پرورشی، آب تازه ورودی اضافه می شد. میزان گردش روزانه آب آکواریومهای پرورشی طوری تنظیم شد که در طول دوره نگهداری، حداقل یک بار کل آب آکواریومها در گردش بوده و در عین حال میزان تراکم باکتریها در هر بیوفیلتر به صورت روزانه بررسی شد تا در صورت کاهش تراکم تعیین شده برای هر تیمار، نیاز روزانه تراکم باکتریهای تیمارها

می‌شد تا مقدار غذادهی روزانه و شاخص‌های رشد ماهیان در طول هفته و دوره یک ماهه معین شود.

میزان تابش نور با استفاده از لامپ مهتابی به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی برای آکواریوم‌ها در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد بچه ماهیان

شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن (WG)، افزایش وزن بدن (BWI)، ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و درصد بقای (SR) بچه ماهی‌ها طی ۴ هفته دوره پرورش بر اساس رابطه‌های ۱ تا ۵ محاسبه شد (Ricker, 1990; Ronyai et al., 1990; Qinghui et al., 2004).

رابطه ۱:

$$WG(g) = W_f - W_i$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم).

رابطه ۲:

$$BWI(\%) = [(W_f - W_i) / W_i] \times 100$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم).

رابطه ۳:

$$SGR(\%/day) = [(\ln W_f - \ln W_i) / t] \times 100$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم)؛ t : تعداد روزهای آزمایش (روز).

رابطه ۴:

$$FCR = F / (WG)$$

F : غذای مصرفی (گرم)؛ WG : افزایش وزن کسب شده (گرم).

رابطه ۵:

$$SR(\%) = (N_i / N_f) \times 100$$

N_i : تعداد ماهیان در ابتدای دوره؛ N_f : تعداد ماهیان در انتهای دوره.

تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌های شاخص‌های کیفیت آب، تعداد باکتری‌ها و شاخص‌های رشد بچه‌فیل‌ماهیان در تیمارها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها برای مقایسه آماری تیمارها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) و برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از پس‌آزمون دانکن استفاده شد. کلیه آزمون‌های آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد.

نتایج

بر اساس نتایج اندازه‌گیری شاخص‌های کیفی آب آکواریوم‌های پرورش فیل‌ماهیان (میزان اکسیژن و pH)، تیمارهای آزمایشی (T_1 ، T_2 و T_3) و تیمار شاهد (C) اختلاف معنی‌دار

آماري وجود داشت ($P < 0.05$). اين نتايج بيانگر آن است كه تركيب باكتريايي تلقیح شده در بيوفيلترها تاثير مثبت و معنی داری بر روی بهبود كيفيت فیزیكوشیمیایی پساب خروجی مخازن پرورش فیل ماهی داشت.

تعداد کل باکتری ها در پساب خروجی

بر اساس نتایج به دست آمده لگاریتم تعداد کل باکتری ها در پساب خروجی تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد اختلاف آماری معنی داری را نشان نداد ($P > 0.05$ ؛ جدول ۳). به نحوی كه تعداد کل باکتری ها هم در تیمار شاهد و هم در تیمارهای آزمایشی در طی چهار هفته دارای روند افزایشی تقریباً یكنواخت با اختلاف بسیار كم بودند.

شاخص های رشد فیل ماهیان

بر اساس نتایج جدول ۴، وزن نهایی بچه فیل ماهیان در آكواریوم های پرورشی تحت تلقیح غلظت های متفاوت تركيب باكتريايي در بيوفيلتر يك سيستم بازگردشی، نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح باکتری های منتخب)، اختلاف معنی دار آماری را نشان داد. به طوری كه میانگین وزن نهایی در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد بیشتر بود ($P < 0.05$).

آماري با هم داشتند ($P < 0.05$ ؛ جدول ۲). به نحوی كه میزان pH تیمار شاهد در طی چهار هفته متوالی افزایش پیدا كرد، اما در هر سه تیمار آزمایشی با کاهش همراه بود. در بین تیمارهای آزمایشی نیز تیمار دوم کاهش بیشتری داشت، ولی اختلاف بین آنها معنی دار نبود ($P > 0.05$). همچنین میزان اكسیژن در تیمارهای آزمایشی دارای روند افزایشی بود، اما در تیمار شاهد روند كاهشی داشت. از نظر اكسیژن نیز تیمار دوم (T_2) در بین تیمارهای آزمایشی افزایش بیشتری داشت، ولی اختلاف معنی داری با هم نداشتند. كيفيت پساب خروجی بيوفيلترها از نظر آمونیاك، نیتريت و نیترات بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد دارای اختلاف معنی دار بودند ($P < 0.05$). چنانچه در تیمارهای آزمایشی، به غیر از هفته اول كه نیتريت افزایش پیدا كرد. در طول سه هفته بعد تركيبات نیتروژنه روند كاهشی داشتند. اما در بین سه تیمار آزمایشی (T_1 ، T_2 و T_3) هرچند تیمار دوم از نظر میزان آمونیاك، نیتريت و نیترات، کاهش بیشتری را نشان داد، اما اختلاف آماری معنی داری بین آنها دیده نشد ($P > 0.05$).

بر اساس نتایج به دست آمده، بین کیفیت آب گروه های تیمار و شاهد اختلاف معنی دار

جدول ۲: شاخص‌های کیفی آب آکواریوم‌های پرورش بچه فیل ماهیان در تیمارهای مختلف تلقیح ترکیب باکتریایی به بیوفیلترها (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ سه تکرار)

شاخص	تیمار	زمان (هفته)			
		۰	۱	۲	۳
آمونیاک (mg/L)	C	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰۶	۰/۲۸ $\pm$ ۰/۰۷	۰/۴۷ $\pm$ ۰/۰۸	۰/۷۵ $\pm$ ۰/۰۷
	T ₁	۰/۲۲ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۱۳ $\pm$ ۰/۰۶	۰/۱۲ $\pm$ ۰/۰۸	۰/۰۹۷ $\pm$ ۰/۰۹
	T ₂	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰۵	۰/۱۳ $\pm$ ۰/۰۵	۰/۱۱ $\pm$ ۰/۰۸	۰/۰۹۵ $\pm$ ۰/۰۲
	T ₃	۰/۲۲ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۱۵ $\pm$ ۰/۰۴	۰/۱۱ $\pm$ ۰/۰۷	۰/۰۹۶ $\pm$ ۰/۰۶
نیتريت (mg/L)	C	۰/۲۱ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۰۳	۰/۲۵ $\pm$ ۰/۰۵	۰/۲۸ $\pm$ ۰/۰۴
	T ₁	۰/۲۱ $\pm$ ۰/۰۵	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰۸	۰/۱۴ $\pm$ ۰/۰۶	۰/۰۹ $\pm$ ۰/۰۴
	T ₂	۰/۲۲ $\pm$ ۰/۰۴	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰۷	۰/۱۲ $\pm$ ۰/۰۵	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۳
	T ₃	۰/۲۱ $\pm$ ۰/۰۶	۰/۲۲ $\pm$ ۰/۰۷	۰/۱۲ $\pm$ ۰/۰۴	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۴
نیترات (mg/L)	C	۳/۶۷ $\pm$ ۰/۰۹	۳/۷۶ $\pm$ ۰/۱۸	۳/۸۶ $\pm$ ۰/۲۷	۳/۹۴ $\pm$ ۰/۲۶
	T ₁	۳/۶۷ $\pm$ ۰/۰۶	۳/۳۵ $\pm$ ۰/۰۸	۳/۱۶ $\pm$ ۰/۰۷	۲/۸۴ $\pm$ ۰/۰۸
	T ₂	۳/۶۶ $\pm$ ۰/۰۶	۳/۳۴ $\pm$ ۰/۰۶	۲/۹۵ $\pm$ ۰/۰۸	۲/۸۰ $\pm$ ۰/۰۹
	T ₃	۳/۶۵ $\pm$ ۰/۰۶	۳/۳۵ $\pm$ ۰/۰۸	۲/۹۲ $\pm$ ۰/۰۴	۲/۸۱ $\pm$ ۰/۰۴
pH	C	۸/۰۷ $\pm$ ۰/۱۰	۸/۰۲ $\pm$ ۰/۲۱	۸/۰۴ $\pm$ ۰/۲۲	۸/۰۴ $\pm$ ۰/۱۵
	T ₁	۸/۰۷ $\pm$ ۰/۲۰	۸/۰۲ $\pm$ ۰/۱۸	۸/۰۱ $\pm$ ۰/۲۰	۷/۸۰ $\pm$ ۰/۱۹
	T ₂	۸/۰۷ $\pm$ ۰/۱۰	۸/۰۱ $\pm$ ۰/۲۲	۸/۰۱ $\pm$ ۰/۱۰	۷/۸۰ $\pm$ ۰/۱۵
	T ₃	۸/۰۷ $\pm$ ۰/۱۰	۸/۰۱ $\pm$ ۰/۱۵	۸/۰۰ $\pm$ ۰/۱۰	۷/۸۰ $\pm$ ۰/۲۰
اکسیژن محلول (mg/L)	C	۶/۷ $\pm$ ۰/۱۰	۶/۳ $\pm$ ۰/۲۶	۵/۹ $\pm$ ۰/۲۰	۵/۶ $\pm$ ۰/۱۵
	T ₁	۶/۷ $\pm$ ۰/۰۸	۶/۹ $\pm$ ۰/۲۰	۷/۱ $\pm$ ۰/۲۶	۷/۱ $\pm$ ۰/۳۱
	T ₂	۶/۷ $\pm$ ۰/۰۹	۶/۹ $\pm$ ۰/۳۰	۷/۱ $\pm$ ۰/۱۵	۷/۱ $\pm$ ۰/۲۵
	T ₃	۶/۷ $\pm$ ۰/۱۰	۶/۹ $\pm$ ۰/۲۶	۷/۱ $\pm$ ۰/۳۰	۷/۱ $\pm$ ۰/۱۵
دما (°C)	C	۲۱/۷ $\pm$ ۰/۱۵	۲۱/۸ $\pm$ ۰/۲۵	۲۱/۸ $\pm$ ۰/۲۱	۲۲/۲ $\pm$ ۰/۳۱
	T ₁	۲۱/۶ $\pm$ ۰/۱۶	۲۱/۸ $\pm$ ۰/۱۹	۲۱/۸ $\pm$ ۰/۳۶	۲۲/۲ $\pm$ ۰/۳۶
	T ₂	۲۱/۷ $\pm$ ۰/۱۴	۲۱/۹ $\pm$ ۰/۱۵	۲۱/۹ $\pm$ ۰/۲۶	۲۲/۳ $\pm$ ۰/۲۵
	T ₃	۲۱/۶ $\pm$ ۰/۱۵	۲۱/۹ $\pm$ ۰/۱۸	۲۱/۹ $\pm$ ۰/۳۵	۲۲/۴ $\pm$ ۰/۲۸

C: تیمار شاهد، بدون افزودن ترکیب باکتریایی به بیوفیلتر؛ T₁ (تیمار ۱): تلقیح CFU/mL 1×10^5 ترکیب باکتریایی به بیوفیلتر؛ T₂ (تیمار ۲): تلقیح CFU/mL 1×10^7 ترکیب باکتریایی به بیوفیلتر؛ T₃ (تیمار ۳): تلقیح CFU/mL 1×10^9 ترکیب باکتریایی به بیوفیلتر.

در ستون آخر، حروف غیرهمسان نشانه اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در هر شاخص است ($P < 0.05$).

جدول ۳: لگاریتم تعداد کل باکتری های آب آکواریوم های پرورش بچه فیل ماهیان در تیمارهای مختلف تلقیح ترکیب باکتریایی به بیوفیلترها در دوره چهار هفته ای آزمایش (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ سه تکرار)

لگاریتم تعداد کل باکتری ها (CFU/mL)				زمان (هفته)
T ₃	T ₂	T ₁	C	
۲/۵ $\pm$ ۱	۲/۵ $\pm$ ۱	۲/۵ $\pm$ ۱	۲/۵ $\pm$ ۱	۰
۳/۸ $\pm$ ۱	۳/۷ $\pm$ ۱	۳/۷ $\pm$ ۱	۳/۶ $\pm$ ۱	۱
۴/۲ $\pm$ ۱	۴/۲ $\pm$ ۱	۴/۱ $\pm$ ۱	۴/۰ $\pm$ ۱	۲
۵/۱ $\pm$ ۱	۵/۰ $\pm$ ۱	۵/۰ $\pm$ ۱	۴/۸ $\pm$ ۱	۳
۵/۸ $\pm$ ۱	۵/۸ $\pm$ ۱	۵/۸ $\pm$ ۱	۵/۷ $\pm$ ۱	۴

اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P>0/05$).

جدول ۴: شاخص های رشد بچه فیل ماهیان در تیمارهای مختلف تلقیح ترکیب باکتریایی به بیوفیلترها در طی چهار هفته پرورش (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ سه تکرار)

T ₃	T ₂	T ₁	C	تیمارها
۲۱/۶۵ $\pm$ ۲/۸۰ ^a	۲۱/۲۸ $\pm$ ۲/۱۷ ^a	۲۱/۱۵ $\pm$ ۲/۱۱ ^a	۲۱/۱۸ $\pm$ ۲/۱۴ ^a	وزن اولیه (گرم)
۶۵/۲۲ $\pm$ ۱/۶۰ ^b	۶۳/۷۵ $\pm$ ۲/۳۰ ^b	۶۱/۲۱ $\pm$ ۲/۴۰ ^b	۵۶/۷۸ $\pm$ ۵/۱۵ ^a	وزن نهایی (گرم)
۲۰۱/۲۵ $\pm$ ۲/۷ ^b	۱۹۹/۵۸ $\pm$ ۱/۲ ^b	۱۸۹/۴۱ $\pm$ ۲/۳ ^b	۱۶۸/۰۸ $\pm$ ۳/۹ ^a	BWI (درصد)
۳/۹۴ $\pm$ ۰/۱۵ ^b	۳/۹۳ $\pm$ ۰/۱۷ ^b	۳/۸۰ $\pm$ ۰/۱۱ ^{ab}	۳/۵۲ $\pm$ ۰/۱۸ ^a	SGR (درصد در روز)
۱/۱۳ $\pm$ ۰/۵۸ ^b	۱/۱۱ $\pm$ ۰/۱۴ ^b	۱/۱۹ $\pm$ ۰/۴۵ ^{ab}	۱/۳۰ $\pm$ ۰/۱۶ ^a	FCR
۹۳/۳ $\pm$ ۰/۰۸ ^{ab}	۹۶/۶ $\pm$ ۰/۰۳ ^b	۹۳/۳ $\pm$ ۰/۰۹ ^{ab}	۹۰/۰ $\pm$ ۰/۰۰ ^a	SR (درصد)

BWI: درصد افزایش وزن بدن؛ SGR: نرخ رشد ویژه؛ FCR: ضریب تبدیل غذا؛ SR: درصد بقا.
در هر ردیف، حروف غیرهمسان نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها است ($P<0/05$).

در مقایسه درصد افزایش وزن فیل ماهیان، آزمایشی به شکل معنی داری نسبت به شاهد بین تیمارهای آزمایشی و شاهد اختلاف بیشتر بود، اما اختلاف معنی داری در بین معنی دار آماری مشاهده شد ($P<0/05$). تیمارهای آزمایشی دیده نشد ($P>0/05$). میانگین درصد افزایش وزن در تیمارهای هر چند که تیمار ۲ و ۳ نسبت به تیمار اول

بحث

درصد افزایش وزن بیشتری را نشان دادند. در مقایسه میانگین ضریب تبدیل غذایی بین تیمارها و شاهد در پایان دوره، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی به شکل معنی‌داری نسبت به شاهد از میزان کمتری برخوردار بوده و عملکرد غذا در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد بهتر بود. در ارزیابی شاخص ضریب تبدیل غذایی نیز بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$)، اما تیمار دوم نسبت به دو تیمار ۱ و ۳ ضریب تبدیل کمتری داشت. در مقایسه نرخ رشد ویژه فیل ماهیان در تیمارهای آزمایشی و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که میانگین نرخ رشد ویژه در تیمارها به شکل معنی‌داری نسبت به شاهد بیشتر بود. از نظر میزان درصد بقای بچه ماهیان نیز بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری دیده شد ($P < 0.05$). تیمار شاهد کمترین میزان بازماندگی را نسبت به تیمارهای آزمایشی داشت. در بین تیمارهای آزمایشی نیز تیمار دوم بیشترین بازماندگی (۹۶/۶ درصد) را داشت.

در سیستم پرورش ماهیان خاویاری بویژه اگر با تراکم بالا همراه باشد، حفظ تعادل شاخص‌های کیفیت آب محیط پرورش در سلامت فیزیولوژیک و رشد ماهیان خاویاری از مهم‌ترین عوامل چالش برانگیز است (Rafatnezhad et al., 2008). از مشکلات اساسی آبی‌پروری متراکم و بویژه سیستم‌های بسته، افزایش آمونیاک و نیتريت حاصل از فعالیت‌های مختلف آبی در محیط پرورشی است. در محیط زیست آبی، آمونیاک به دو شکل آمونیاک یونیزه شده NH_4^+ و آمونیاک غیریونیزه NH_3 وجود دارد (Kolarevic et al., 2014). از این رو، تدابیری باید ایجاد کرد که آمونیاک و نیتريت تولیدی حذف و یا میزان سمیت آنها در آب به کمترین حدی برسد که آسیبی به آبزیان وارد نکند (Grommen et al., 2002; Colt, 2006; Bronzi et al., 2019).

به طور کلی، میزان سمیت آمونیاک برای جانداران آبی تحت تاثیر سن، اندازه و وضعیت سلامتی آن گونه است. ویژگی‌های فیزیوشیمیایی مانند اکسیژن محلول، کدورت آب، pH، دما، غلظت و ترکیب مواد شیمیایی و

تراکم، همگی بر نتیجه آزمایش های سمیت تاثیرگذار هستند (Nwani et al., 2010).

به هنگام افزایش آمونیاک، نیتريت، سولفید هیدروژن و متان در محیط های آبی، میکروارگانیسم های موجود قادر به کاهش آنها در کوتاه مدت نیستند و از طرفی تکثیر میکروارگانیسم های هتروتروف تجزیه کننده مواد آلی، باعث افزایش شرایط بی هوازی می شوند. به دنبال آن، کمبود اکسیژن به وجود می آید که دارای اثرات سوء بر آبزیان مختلف است (Colt, 2006). به منظور تقویت میکروارگانیسم های طبیعی آب، از باکتری های مفید تحت عنوان پروبیوتیک استفاده می شود که این باکتری ها باعث افزایش تجزیه مواد آلی، کاهش غلظت نیتروژن و فسفر، افزایش اکسیژن محلول، کاهش H_2S و سیانوباکتری ها می شوند. همچنین کنترل آمونیاک و نیتريت موجب جلوگیری از مسمومیت و شیوع بیماری و افزایش بقا و در نتیجه افزایش تولید می شود (Summerfelt et al., 2009).

شناخت ترکیب، تنوع و تراکم و همچنین فعالیت جمعیت های مختلف باکتریایی موجود در اکوسیستم های آبی، بهینه سازی شرایط فیزیوشیمیایی آب، افزایش جمعیت گونه های خاص باکتریایی و فعالیت های بیوشیمیایی آنها

از روش های زیستی مدیریت کیفی آب است و در مقایسه با روش های غیرزیستی مانند استفاده از مواد شیمیایی همانند ازن، کلر، عوامل اکسید کننده، شلاته کننده و غیرفعال کننده و روش های فیزیکی مانند فیلتراسیون، هوادهی و گرما دارای محاسن و معایب متفاوتی است. در صورت آموزش آبی پروران و تامین لوازم مورد نیاز، استفاده از ترکیب باکتریایی تصفیه گر پساب به لحاظ ارزان و ساده بودن تکنیک مورد استفاده و عدم وجود عوارض و خطرات احتمالی مفید و موثر است (Gatesoupe, 1999; Holzapfel and Schillinger, 2002). در استفاده از میکروارگانیسم ها به منظور کاهش آلاینده های مختلف از جمله آمونیاک و نیتريت باید به عوامل مختلف از جمله pH، نوع میکروارگانیسم، غلظت و روش مورد استفاده، دما و سیستم هواده توجه کرد، زیرا عوامل یاد شده در ارتباط مستقیم با افزایش و یا کاهش واکنش های تجزیه ای هستند. در این پژوهش برای بهبود کیفیت آب و پساب مخازن پرورش فیل ماهیان و همچنین افزایش شاخص های رشد در ماهیان خاویاری مورد پرورش از گونه های مختلف باکتری شامل *Bacillus licheniformis*، *Corynebacterium ammoniagenes*، *Nitrosomonas*

شد که سلول‌های لیوفیلیزه، تازه و رقیق شده دارای اثرات مشابه این پژوهش بر رشد و بقای میگو بوده و شاخص‌های کیفی آب مانند اکسیژن، آمونیاک، نیترات، نیتريت و فسفر را در حد مطلوب برای پرورش میگو نگه داشته است (Rengpipat et al., 2000).

در بررسی شاخص‌های رشد انواعی از آبزیان پرورشی گزارش شده است که افزودن باکتری‌های آنتاگونیستیک به آب در کاهش بیماری‌ها موثر است و تعداد باکتری‌های بیماری‌زا را کاهش می‌دهد (Austin et al., 1995).

تاثیر ترکیب باکتریایی منتخب به کار رفته در این پژوهش در مورد افزایش درصد بقای ماهیان، شاید ناشی از تغذیه مستقیم گونه مورد نظر توسط ماهی و یا از راه اثر تغذیه‌ای غیرمستقیم باشد. از طرفی گزارش شده است که این باکتری‌ها ترکیبات سمی و غیرتغذیه‌ای محیط را تجزیه و هضم کرده و سپس آبی مورد پرورش می‌تواند غذای سالم را جذب کند (Balcazar, 2004).

علاوه بر این، بسیاری از باکتری‌ها، انواع مختلفی از آنزیم‌ها مثل پروتئاز و لیپاز و انواع دیگر آنزیم‌ها را تولید می‌کنند که این آنزیم‌ها می‌توانند انواع مواد آلی و مواد غذایی را تجزیه

Nitrobacter winogradskyi و *europaea* استفاده شد. در فرایند نیتریفیکاسیون آمونیاک از طریق *Nitrosomonas* به نیتريت تبدیل می‌شود. علاوه بر *Nitrosomonas* برخی از باکتری‌ها مثل *Bacillus* قادر به انجام این واکنش هستند و در برخی از بسته‌های پروبیوتیک بجای *Nitrosomonas* از برخی سویه‌های *Bacillus* و *Pseudomonas* نیز استفاده می‌کنند. نیتريت تولید شده در ادامه فرایند نیتریفیکاسیون توسط *Nitrobacter* به نیترات تبدیل می‌شود و یا حتی توسط برخی از باکتری‌ها می‌تواند به N_2 تبدیل شود.

غلظت مورد استفاده باکتری‌ها بستگی به هدف مورد نظر و نوع فرآیند متفاوت است. چنان که در مطالعات مربوط به تجزیه زیستی، ضریبی از 10^8 است که به مقدار ۵ درصد به محیط پایه اضافه می‌شود (Gatesoupe, 1999; Verstraete, 2000). غلظت پیش‌بینی شده و مورد استفاده در واقع مشابه تراکم باکتری‌های طبیعی استخر پرورش ماهی بوده و فاقد عوارض جانبی و بیماری‌زایی برای آبزیان است. معرفی و حضور این باکتری‌ها، موجب رشد، تکثیر و تقویت باکتری‌های مفید شده و باعث بهینه کردن محیط پرورش آبی می‌شود. در مطالعات انجام شده توسط برخی از پژوهشگران مشخص

کرده و به مواد مغذی قابل جذب تبدیل کنند. همچنین ترکیب باکتریایی با تولید مواد ضدباکتریایی و رقابت در جذب املاح غذایی، از ازدیاد و تجمع باکتری های بیماری زا در محیط و در دستگاه گوارش ماهی جلوگیری می کنند. انواع *Bacillus* ها، آنتی بیوتیک هایی مثل دیفیسیدین و اکسی دیفیسیدین تولید می کنند که می توانند طیف وسیعی از باکترهای هوازی و بی هوازی (بیماری زا) را از بین ببرند (Gullian and Rodriguez, 2002).

مطابق نتایج به دست آمده در این پژوهش، خاصیت تصفیه کنندگی ترکیب باکتریایی منتخب به کار رفته در بیوفیلترها، نشان دهنده اختلاف و کاهش متغیرهای pH، آمونیاک، نیتريت و نیترات در پساب مخازن پرورش فیل ماهی بین تیمارهای آزمایشی با غلظت متفاوت ترکیب باکتریایی تلقیح شده در بیوفیلترها نسبت به تیمار شاهد بود. از این رو، با بهبود کیفیت فیزیکوشیمیایی پساب خروجی مزارع پرورش ماهیان خاویاری می توان، دوباره از این پساب تصفیه شده در یک سیستم برگشت آب برای پرورش ماهیان خاویاری استفاده کرد. همچنین با به کار بردن این ترکیب باکتریایی در بیوفیلترهای مورد استفاده شاخص های رشد ماهیان نیز کاملاً بهبود یافت و بیشتر شد.

آنچنان که از نظر آماری اختلاف معنی داری را در افزایش درصد بقا، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای T₁، T₂ و T₃ به ترتیب با غلظت باکتریایی ۱۰^۵، ۱۰^۷ و ۱۰^۹ سلول در میلی لیتر (تلقیح شده در بیوفیلترها) نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح باکتری) در طول دوره پرورش فیل ماهیان نشان داد. به طور مقایسه ای نیز در بین سه تیمار آزمایشی، تیمار دوم با غلظت باکتریایی ۱۰^۷ سلول در میلی لیتر، کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی و بیشترین میزان باقی ماندگی را داشت.

در مجموع، بر اساس نتایج به دست آمده از این پژوهش، می توان گفت که به طور کلی سه تیمار آزمایشی با ترکیب باکتریایی منتخب خالص سازی و جدا شده از مخازن پرورش فیل ماهیان با تاکید بر تیمار دوم (T₂) می توانند، به عنوان یکی از عوامل کنترل کیفیت زیستی آب و پساب مزارع پرورش ماهیان خاویاری و افزایش رشد و تولید فیل ماهیان در مراکز تکثیر و پرورش ماهی به منظور بهره برداری بهینه و بیشینه از حداقل آب و زمین در دسترس با روش بیوفیلتراسیون و بازگردش کامل آب مورد استفاده قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

در انجام این پژوهش از همکاری و مساعدت ریاست و کارکنان آزمایشگاه‌ها در مرکز آموزش علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان گیلان، انستیتو بین المللی تاس ماهیان و مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی و

مزارع خصوصی، همچنین آزمایشگاه پروفیسور قمر سیجام دانشگاه پوترای مالزی بهره‌مند گردیده‌ایم که بدین وسیله از همکاری ایشان صمیمانه قدردانی می‌گردد.

منابع

- Austin B., Stuckey L.F., Robertson P.A.W., Effendi J. and Griffith D.R.W. 1995.** A probiotic reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* *Vibrio ordalii*. Journal of Fish Diseases, 18: 93–96. doi: 10.1111/j.1365-2761.1995.tb01271.x
- Balcazar J.L., De Blas I., Ruiz-Zarzuela I., Vendrell D. and Muzquiz J.L. 2004.** Probiotics: A tool for the future of fish and shellfish health management. Journal of Aquaculture in the Tropics, 19: 239–242.
- Bronzi P., Chebanov M., Michaels J.T., Wei Q., Rosenthal H. and Gessner J. 2019.** Sturgeon meat and caviar production: Global update 2017. Journal of Applied Ichthyology, 35(1): 257–266. doi: 10.1111/jai.13870
- Colt J. 2006.** Water quality requirements for reuse systems. Aquacultural Engineering, 34: 143–156. doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.08.011
- Crab R., Avnimelech Y., Defoirdt T., Bossier P. and Verstraete W. 2007.** Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture, 270: 1–14. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.05.006
- Gatesoupe F.J. 1999.** The use of probiotics in aquaculture: A review. Aquaculture, 180: 147–165. doi: 10.1016/S0044-8486(99)00187-8
- Grommen R., Van Hautegehem I., Van Wambeke M. and Verstraete W. 2002.** An improved nitrifying enrichment to remove ammonium and nitrite from freshwater aquaria systems. Aquaculture, 211(1): 115–124. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00883-3
- Gullian M. and Rodriguez J. 2002.** Selection of probiotic bacteria and study of their immuno stimulatory qualities of probiotic bacteria. Global Aquaculture Advocate, 5: 52–54. doi: 10.1016/j.aquaculture.2003.09.013
- Hollocher T.C., Tate M.E. and Nicholas D.J.D. 1981.** Oxidation of ammonia by *Nitrosomonas europaea*. The Journal of Biological Chemistry, 256(21): 10834–10836. doi: 10.1016/S0021-9258(19)68518-2
- Holzappel W.H. and Schillinger U. 2002.** Introduction to per- and probiotics. Food Research International, 35: 109–116. doi: 10.1016/S0963-9969(01)00171-5
- Keysami M.A., Saad C.R. and Mohamadpour M. 2012.** Probiotic activity of *Bacillus subtilis* in juvenile freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) at different methods of administration to the feed. Aquaculture International,

- 20: 499–511. doi: 10.1007/s10499-011-9481-5
- Kolarevic J., Baeverfjord G., Takle H., Ytteborg E., Reiten B.K.M., Nergard S. and Terjesen B.F., 2014.** Performance and welfare of Atlantic salmon smolt reared in recirculating or flow through aquaculture systems. *Aquaculture*, 432: 15–25. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.03.033
- Nwani C.D., Lakra W.S., Nagpure N.S., Kumar R., Kushwaha B. and Srivastava S.K. 2010.** Mutagenic and genotoxic effects of carbosulfan in freshwater air-breathing fish *Channa punctatus* (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis. *Food and Chemical Toxicology*, 48(1): 202–208. doi: 10.1016/j.fct.2009.09.041
- Otte G. and Rosenthal H. 1979.** Management of a closed brackish water system for high culture by biological and chemical water treatment. *Aquaculture*, 18: 169–181. doi: 10.1016/0044-8486(79)90029
- Rafatnezhad S., Falahatkar B. and Tolouei Gilani M.H. 2008.** Effects of stocking density on haematological parameters, growth and fin erosion of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Research*, 39(14): 1506–1513. doi: 10.1111/j.1365-2109.2008.02020
- Rengpipat S., Phianphak W., Piyativatitivorakul S. and Menasveta P. 2000.** Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* spp.). *Aquaculture*, 191: 271–288. doi: 10.1016/S0044-8486(00)00440-3
- Ricker W.E. 1990.** Growth rates and models. P: 673–743. In: Hoar W.S., Randall D.J. and Brett J.R. (Eds.). *Fish physiology*. Academic Press, USA. doi: 10.1016/bs.fp.2024.07.009
- Ronyai A., Ruttkay A., Varadi L. and Peteri A. 1990.** Growth of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* B.) and that of its both hybrids with the sterlet (*Acipenser ruthenus* L.) in recycling system. *Acipenser Premier Colloque International Sur l'esturgeon*, Cemagref, France. P: 423–427.
- Sugita H., Okamo R., Suzuki Y., Iwai D., Mizukami M., Akiyama N. and Matsuura S. 2002.** Antibacterial abilities of intestinal bacteria from larval and juvenile Japanese flounder against fish pathogens. *Fish Science*, 68: 1004–1011. doi: 10.1046/j.1444-2906.2002.00525.x
- Summerfelt S.T., Sharrer M.J., Tsukuda S.M. and Gearheart M. 2009.** Process requirements for achieving full-flow disinfection of recirculating water using ozonation and UV irradiation. *Aquacultural Engineering*, 40: 17–27. doi: 10.1016/j.aquaeng.2008.10.002

Timmons M.B., Ebeling J.M., Wheaton F.W., Summerfelt S.T. and Vinci B.J. 2002. Recirculating Aquaculture Systems. Cayuga Aqua Ventures, USA. 210P.

Verstraete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control

agents in aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 64(4): 655–671. doi: 10.1128/mmbr.64.4.655-671.2000



Research Paper

Microbial treatment of wastewater from great sturgeon culture (*Huso huso*) tanks under influence of different concentrations of *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Nitrosomonas* and *Nitrobacter* bacterial composition in the water recirculation system

Mohsen Pourasadi^{1*}, Masoud Sattari², Mehran Avakh Keysami³, Hojatollah Zamani⁴

DOI: 10.22124/japb.2024.26682.1530

Received: February 2024

Accepted: August 2024

Abstract

This study was conducted with designed biofilters containing a combination of *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Nitrosomonas* and *Nitrobacter* bacteria at different concentrations and a control (without bacteria) for biological treatment of wastewater from aquariums with a water intake volume of 0.4m³ and a density of 10 great sturgeon (*Huso huso*). The inlet water flow rate of each aquariums was 0.004L/s and the number of water circulation times of each aquariums was determined once in 24 hours. 4 days after adding fish with an average weight of 21.35±2.67g to the aquariums, a mixture of 4 bacteria in the form of concentrated suspensions at ratios of 10⁵, 10⁷ and 10⁹ cells/mL was inoculated into the biofilters placed at the effluent outlet of these aquariums. The levels of ammonia, nitrite, nitrate, weight and growth indices of the fry were evaluated weekly. After 4 weeks of treatment with different concentrations of the selected bacterial composition, the difference in water quality between the experimental and control treatments was significant (P<0.05). During the experimental period, the levels of pH, oxygen, ammonia, nitrite and nitrate increased in the control treatment and decreased in the three experimental treatments. The survival rate, weight gain and specific growth rate increased in the experimental treatments compared to the control. On the contrary, the feed conversion ratio in the control treatment was higher than the experimental treatments (P<0.05). However, comparing the experimental treatments with each other, there was no statistically significant difference between them (P>0.05). Therefore, based on these results, the selected bacterial composition cultivated in biofilters with a concentration of 10⁷ cells/mL can be used to improve the quality of sturgeon farm effluent.

Key words: Reuse Water, Water Quality, *Huso huso*, Growth Index, Wastewater Treatment.

1- Ph.D. Student in Fisheries, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

2- Professor in Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

3- Associate Professor in Fisheries and Aquatics Department, Mirza Kouchak Khan Fisheries Science and Industry Education Unit, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Guilan Province, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Iran.

4- Associate Professor in Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.

*Corresponding Author: pourasadim@yahoo.com